Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 16, No. 4, Oct- Nov 2020, p. 343-356

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 16، شماره 4، مهر - آبان 1399، ص. 356-343

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی خواص حسی و اثر ضدمیکروبی اسانس کندر و موسیر بر باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در پنیر سفید آب نمکی

فرناز صادقی[1]- لیلا ناطقی[2]*

تاریخ دریافت: 1398/03/05
تاریخ پذیرش: 1398/06/13

چکیده

افزایش سطح آگاهی مردم و نگرانی در خصوص استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی، کاربرد مواد نگهدارنده و ضدمیکروبی گیاهی و اثر آن بر رشد میکروارگانیسم‌های مهم غذایی افزایش یافته است. لذا هدف کلی از این پژوهش بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، ضدمیکروبی و حسی پنیر سفید آب نمکی حاوی اسانس کندر در غلظت‌های (0/5، 0/6، 0/7 درصد) و اسانس موسیر در غلظت‌های (0/05، 0/1، 0/2 درصد) به همراه باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* به میزان 10^3cfu/ml به نمونه‌های شیر پیش‌ساز پنیر طی 60 روز نگهداری بود. نتایج بررسی ضد میکروبی نشان داد میانگین شمارش میکروبی در تیمارهای 0/2 درصد اسانس موسیر و 0/7 درصد اسانس کندر در انتهای دوره نگهداری به‌ترتیب 0/000 cfu/ml و 14/7 cfu/ml بود، که در مقایسه با سایر تیمارها بیشترین کاهش را نشان دادند ($p \leq 0/05$). نتایج حاصل از بررسی خصوصیات فیزیکوشیمایی انجام شده، نشان داد که این جایگزینی روی خواص فیزیکوشیمیایی پنیر اثر معنی‌داری نداشت ($p>0/05$). نتایج ارزیابی حسی پنیر نشان داد اختلاف معنی‌داری بین امتیاز پذیرش کلی تمامی تیمارهای مورد آزمون و نمونه شاهد مشاهده نگردید، بنابراین می‌توان از دو اسانس موسیر و کندر به عنوان جایگزین مناسب نگهدارنده‌های شیمیایی در محصولات لبنی استفاده نمود بدون اینکه اثر نامطلوب روی خواص حسی محصول داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: پنیر سفید آب نمکی، *لیستریا مونوسیتوژنز*، کندر، موسیر، اسانس.

مقدمه

شیر و فرآورده‌های لبنی آلوده یکی از منابع مهم مسمومیت‌های غذایی در انسان به‌شمار می‌آیند. به دلیل تامین شرایط مناسب جهت رشد بسیاری از میکروارگانیسم‌ها و از سوی دیگر مصرف گسترده آن از سوی افراد مختلف با شرایط سنی متفاوت، بهداشت و ایمنی فرآورده‌های لبنی بسیار مورد توجه است. در فرآورده‌های شیری، پنیر از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. بر اساس آمار و اطلاعات (FAO)[3] در سال 2005 کشور ایران با 216/7 هزار تن، 1/17 درصد از کل تولید جهانی را دارا بوده است. پنیر سفید آب نمکی یکی از مهمترین اقلام عادات غذایی در ایران است و مصرف سرانه آن در حدود 5/4 کیلوگرم در سال می‌باشد (Alizadeh *et al*., 2009). اساسا پنیرهای سفید تهیه شده در آب نمک جز پنیرهای نرمی می‌باشند که در آب نمک رسیده نگهداری می‌شوند. مهمترین دلایل استفاده از آب نمک در این فرآورده‌ها شامل جذب آب اضافی و تکمیل آبگیری دلمه، افزایش قوام و استحکام دلمه، جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب شامل پاتوژن (Pathogen) و میکروارگانیسم‌های عامل فساد و تولیدکننده گاز، تعدیل رشد میکروارگانیسم‌های مطلوب شامل باکتری‌های اسید لاکتیک، کنترل فعالیت آنزیمی در طی رسیدن پنیر و ایجاد عطر و طعم مناسب از طریق واکنش‌های شیمیایی نظیر پروتئولیز، لیپولیز و گلیکولیز است (Guillermo *et al*., 2006). پنیر سفید آب نمکی، پنیری با ساختار متراکم است که از شیر گاو، گوسفند یا مخلوطی از آن‌ها تهیه می‌گردد و خصوصیات اصلی طعم آن ترشی و شوری می‌باشد. همچنین امکان رشد و بقا باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در طول مدت نگهداری در پنیر سفید آب نمکی وجود دارد. *لیستریا مونوسیتوژنز* باکتری میله‌ای شکل، گرم مثبت و کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی بوده که متابولیسم تنفسی هوازی-بی هوازی اختیاری دارد. اغلب از طریق آب آلوده، غذای

1 و 2- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین– پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.
(* - نویسنده مسئول: Email: leylanateghi@yahoo.com)

DOI: 10.22067/ifstrj.v16i4.80935

3 Food and Agriculture Organization

آلوده و آلودگی متقاطع، عفونت لیستریایی (لیستریوز) رخ می‌دهد. احتمال انتقال لیستریوز از طریق مصرف لبنیات وجود دارد. میزان آلودگی پنیر به باکتری لیستریا نسبت به سایر فرآورده‌های لبنی بیشتر است و 24/4 درصد پنیرهای سنتی آلوده به این باکتری بودند. درحالی که میزان آلودگی در شیر خام و بستنی سنتی به‌ترتیب 11/1 و 13/3 درصد بود (Rahimi *et al*., 2012). اسانس‌های گیاهی مایعات روغنی معطر هستند که از بخش‌های مختلف گیاهان به‌دست آمده و به‌عنوان طعم‌دهنده‌های غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. مطالعات مختلفی ویژگی‌های ضدمیکروبی، ضدقارچی، ضدویروسی، ضدانگلی و آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی را تایید نمودند (Delaquis *et al*., 2002). گیاه *آلیوم ساتیوم*[1] بومی نواحی غرب آسیا است. عده‌ای وطن آن را کوهستان‌های فلسطین می‌دانند، موسیر از گیاهان بومی کشور ایران نیز می‌باشد. در جنس *آلیوم* (***Allium***) بیش از 500 گونه گیاهی شناسایی شده که فقط تعداد معدودی از آنها ارزش غذایی دارند. مهمترین گونه‌های موجود در ایران شامل سیر، پیاز، پیاز کوهی و تره فرنگی می‌باشد. از زمان‌های قدیم از این گیاهان به‌عنوان چاشنی غذا و دارو استفاده می‌کردند (Fenwic and Hanelly, 1985). مهترین ترکیبات موسیر، ترکیبات گوگردی دی‌سولفیدی و تری‌سولفیدی است. خصوصیات ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها) تایید شده است.

کندر (*بوسولیاسریفرا*) گیاه دارویی است که از راسته ناترکسانان[2] که از صمغ آن به‌عنوان خوشبوکننده استفاده می‌شود. نام علمی این گیاه *بوسولیاسریفرا*[3] است. در بین عصاره‌های گیاهی اثرات ضدمیکروبی گیاه کندر *بوسولیا* بر روی برخی ارگانیسم‌ها نظیر باکتری‌ها و ویروس‌ها و هم‌چنین اثرات ضدالتهابی آن بررسی شده است و مطالعات اندکی بر روی اثرات ضدقارچی این گیاه صورت گرفته است (Adelakun*et al*., 2001). محمدپور کنزق و همکاران (1394) اثر ضد میکروبی اسانس گیاه چای کوهی بر باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* را بررسی کردند. نتایج نشان داد این اسانس علیه باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* دارای اثر باکتری‌کشی است. مقادیر MIC و MBC اسانس چای کوهی برای باکتری لیستریا به‌ترتیب 600 و 2400ppm تعیین شد. مشاک و همکاران (1387) رفتار باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در طی روند تولید پنیر سفید ایرانی تحت تاثیر اسانس آویشن شیرازی را برررسی کردند. نتایج حاصل از بررسی نشان داد آویشن شیرازی تاثیر معنی‌داری بر تغییرات pH در نمونه‌های پنیر نداشت. هم‌چنین با افزایش غلظت اسانس مزبور در نمونه‌های پنیر لگاریتم تعداد باکتری کاهش یافت. به‌طوری که کاهش رشد باکتری‌ها تحت تاثیر غلظت‌های 300-150ppm در پنیرها در مقایسه با نمونه‌های فاقد آویشن معنی‌دار بود. یافته‌های این پژوهش نشانگر اثرات بالقوه خوب آویشن شیرازی در پنیر سفید به‌عنوان یک ماده ضدلیستریایی بود. کاربرد غلظت 150ppm آویشن شیرازی در پنیر سفید ایرانی، می‌تواند سبب سلامت این فرآورده با حفظ اثرات ارگانولپتیکی و کاهش رشد باکتری لیستریا در پنیر شود. با توجه به اثرات زیان‌آور نگهدارنده‌های شیمیایی و رواج ایده مصرف سبز، لزوم انجام پژوهش در خصوص اثرات ضدمیکروبی نگهدارنده‌های طبیعی و اسانس‌های گیاهی بر رشد میکروارگانیسم‌های مهم مواد غذایی در مدل‌های آزمایشگاهی و غذایی افزایش یافته است.

هدف از این تحقیق بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، ضدمیکروبی و حسی پنیر سفید آب نمکی حاوی اسانس کندر و اسانس موسیر به‌صورت تکی و توام در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 60 روز بود.

مواد و روش‌ها

شیر با 2/5 درصد چربی، 10/280-10/030 درصد دانسیته و pH= 6/6-6/7 از شرکت پاکبان (ایران) تهیه شد. باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی (ایران)، استاترهای *لاکتوباسیلوس بولگاریس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* (Natural factors company، کانادا) و سایر مواد شیمیایی مورد نیاز از شرکت مرک (آلمان) خریداری گردید.

تهیه اسانس کندر و موسیر

گیاه موسیر و کندر به‌صورت خشک شده از عطاری واقع در تهران تهیه شد. و پس از تایید نام علمی آن توسط گروه گیاه‌شناسی پژوهشکده گیاه‌شناسی گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی از نظر صحت نام علمی تایید شد. برگ‌های گیاه توسط آسیاب پودر شده و از الک با سایز مش 40 عبور داده شد. و با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger) به روش تقطیر با آب، به مدت 3-4 ساعت روغن آن استخراج و با استفاده از سولفات سدیم خشک آب‌گیری شد و تا تشخیص و تعیین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده و تعیین خواص ضدباکتریایی آن، در ظروف شیشه‌ای تیره و در دمای یخچال نگهداری شد (European Pharmacopoeia, 1997).

آنالیز و شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس کندر و موسیر

اسانس گیاه مورد نظر پس از آماده‌سازی به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی تزریق شد تا نوع ترکیبات تشکیل‌دهنده آن تجزیه و تحلیل شود. مشخصات دستگاه

[1] *Allium Sativum*

2 Sapindales
3 *Boswellia thurifera*

کروماتوگرافی گازی از نوع (Agilent 6890) شامل: ستون موبینه به طول 30 متر، قطر داخلی 0/25 میلی‌متر و ضخامت لایه داخلی 0/25 میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی ستون در ابتدا به‌صورت 50 درجه سانتی‌گراد با توقف 5 دقیقه، سپس افزایش دما تا 240 درجه سانتی‌گراد با سرعت 15 درجه در هر دقیقه، در ادامه افزایش دمای ستون تا 300 درجه سانتی‌گراد به مدت 3 دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق 290 درجه سانتی‌گراد و گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان 0/8 میلی‌لیتر در دقیقه انتخاب شد. همچنین شناساگر EI با انرژی یونیزاسیون 70 الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون 250 درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس با استفاده از شاخص‌های بازداری بررسی طیف‌های جرمی ترکیبات و مقایسه آنها با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه‌های رایانه‌ای و مراجع معتبر انجام شد (احسانی و همکاران، 1390).

آماده‌سازی میکروارگانیسم

ابتدا کشت لیوفلیزه *لیستریا مونوسیتوژنز* PTCC1302 که از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. باکتری لیوفلیزه دو مرتبه متوالی در محیط کشت براث بسیار غنی از عضله قلب با نام BHI Broth[1] به مدت 18 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد کشت داده شد. به‌منظور محاسبه میزان باکتری لازم (10^3cfu/ml) جهت تلقیح در شیر پنیرسازی، از کشت مرحله دوم و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 600 نانومتر استفاده شد، شمارش باکتریایی به روش کشت سطحی انجام شد (احسانی و همکاران، 1390).

تهیه نمونه‌های پنیر سفید آب نمکی

به‌منظور تولید پنیر، شیر خام در دمای 72 درجه سانتی‌گراد و به مدت 15 ثانیه پاستوریزه شد، و تا دمای 35 درجه سانتی‌گراد سرد گردید و سپس در هر یک از ظروف استریل مخصوص تهیه پنیر مقدار 5 لیتر از شیر ریخته شد. سپس باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* با دوز مورد نظر (10^3 cfu/ml) به نمونه‌های شیر آماده تلقیح شد. در مرحله بعد غلظت‌های مختلف اسانس موسیر (0/05، 0/1، 0/2 درصد) و اسانس کندر (0/5، 0/6، 0/7 درصد) اضافه شد سپس مقدار 0/02 درصد (وزنی /حجمی) کلرورکلسیم افزوده و سپس مایه کشت آغازگر (Starter Cultur) که شامل باکتری‌های لیوفلیزه *لاکتوباسیلوس بولگاریس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* بود به میزان 0/5 درصد (حجمی/ حجمی) به نمونه‌های شیر تلقیح گردید. نهایتا پس از آنکه pH شیر به 5/6 رسید رنت میکروبی تهیه شده از (سانجیو میتو، ژاپن) به مقدار 0/001 درصد (وزنی/ حجمی) پس از حل نمودن آن در آب مقطر استریل به شیر با دمای 35 درجه سانتی‌گراد افزوده و در حدود 8 دقیقه برای انعقاد شیر و تشکیل لخته، به شیر استراحت داده شد. پس از گذشت یک ساعت، جهت سهولت خروج آب پنیر لخته تشکیل شده به قطعات 2- 1 سانتی‌متر مکعبی برش داده شد و سپس لخته با استفاده از وزنه‌هایی استریل 10 کیلوگرمی به مدت 6 ساعت فشرده گردید. سپس لخته آب‌گیری شده در آب نمک 20 درصد (وزنی/ حجمی) استریل به مدت 8- 6 ساعت قرار داده شد و پس از آن نمونه‌های پنیر برش داده شده ضمن انتقال به آب نمک 8 درصد استریل تا 15 روز در دمای 14-12 درجه سانتی‌گراد و پس از طی دوره رسیدن اولیه جهت رسیدن دوره رسیدن نهایی به مدت 60 روز تا دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (ISIRI NO. 5772, 2001). نمونه شاهد نیز به همین روش تولید گردید بدون اینکه به آن اسانس کندر و موسیر اضافه گردد.

کشت و شمارش میکروبی

جهت شمارش پرگنه‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* با استفاده از محیط انتخابی لیستریا پالکام آگار (Palcam Agar) و به روش کشت سطحی و گرمخانه‌گذاری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد بمدت 48 ساعت انجام شد. نمونه‌برداری از پنیر در روزهای 1، 30، 60 صورت گرفت و کلنی‌های کروی شکل، ریز، با رنگ سبز- خاکستری با حاشیه سیاه شمارش شدند و نسبت به محاسبه تعداد باکتری لیستریا در هر گرم از پنیر اقدام گردید. در هر مرحله از زمان‌های کشت، میانگین تعداد کلنی‌های شمارش شده در 3 تکرار به‌عنوان تعداد *لیستریا مونوسیتوژنز* در هر گرم از نمونه گزارش گردید. با استفاده از روش سری رقت، 20 میکرولیتر از هر کدام از رقت‌های متوالی اسانس مورد مطالعه و 20 میکرولیتر کشت باکتریایی و محیط کشت (معادل نیم مک فارلند که به نسبت 1/100 رقیق شده است) اضافه گردید. در نهایت لوله‌ها به مدت 24 ساعت در 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. نتایج بر حسب کدورت لوله‌ها به طریق چشمی مشخص و مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC)[2] تعیین شد و سپس 0/1 میلی‌لیتر از لوله‌هایی که هیچگونه کدورتی مشاهده نشد در محیط مولر هینتون کشت شد و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC)[3] اسانس کندر و موسیر علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* ارزیابی شد (Khosravi and Malekan, 2004).

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

ارزیابی میزان پروتئین کل پنیر، از روش ماکروکلدال مطابق با استاندارد ملی ایران، به شماره 1811 انجام شد (ISIRI NO. 1811, 2004). اندازه‌گیری چربی، با استفاده از روش ژربر مطابق با استاندارد ملی ایران، به شماره 8587 انجام شد (ISIRI NO. 8587, 2006).

1Brain Heart Infusion Broth
2 Minimum Inhibitory Concentration
3 Minimum Bactericidal Concentration

pH نمونه‌ها با استفاده از pH متر، مامتلر[1] (Methrom، سوئیس) و اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتر بر حسب (اسید لاکتیک) با استفاده از سود یک دهم نرمال و فنل فتالئین با استفاده از استاندارد ملی ایران به شماره 2852 اندازه‌گیری شد (ISIRI NO. 2852, 2006). اندازه‌گیری رطوبت، بر اساس استاندارد ملی ایران، به شماره 1753 انجام شد (ISIRI NO. 1753, 2002). برای اندازه‌گیری نمک، از روش تیترسنجی موهر مطابق با استاندارد ملی ایران، به شماره 1809 انجام شد (ISIRI NO. 1809, 1977).

ارزیابی حسی

تاثیر افزودن اسانس‌های کندر و موسیر بر ویژگی‌های حسی پنیر با استفاده از آزمایش قابلیت پذیرش حسی توسط 10 نفر ارزیاب آموزش دیده با روش هدونیک 5 نقطه‌ای بر روی ویژگی‌های عطر، طعم، بافت و پذیرش کلی صورت پذیرفت. و با توجه به اینکه تیمارهای مورد آزمون آلوده به لیستریا شده بودند برای بخش آزمون حسی از پنیر سفید آب نمکی حاوی غلظت‌های مختلف اسانس کندر و موسیر استفاده شد بدون اینکه به میکروب *لیستریا مونوسیتوژنز* آلوده شوند. ارزیاب‌ها صفات طعم، بو، بافت و پذیرش کلی را با استفاده از یک رتبه‌بندی به‌صورت 5، 4، 3، 2و 1 به‌ترتیب برای بسیار خوب، خوب، متوسط، بد، بسیار بد انجام گردید (ISIRI NO. 3442, 2008).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به‌منظور بررسی ویژگی‌های کمی و معنی‌داری داده‌ها با وجود 10 تیمار و 3 تکرار از آنالیز واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن در سطح 95% اطمینان استفاده شد و برای تجزیه و تحلیل داده‌های آماری از نرم‌افزار مینی‌تب 16 استفاده شد.

نتایج و بحث

آنالیز ترکیبات اسانس‌های کندر و موسیر

نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات اسانس‌های کندر و موسیر توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف نگار جرمی شامل نوع و درصد تشکیل‌دهنده و شاخص بازداری در جدول شماره 1و 2 مشخص شده است. 22 نوع ترکیب شیمیایی در اسانس کندر شناسایی شد. بیش‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس بترتیب شامل α-پینن و پی‌سیمین α-توژن به‌ترتیب در غلظت‌های 35/17و 13/15و 11/13 درصد بود. 28 نوع ترکیب شیمیایی در اسانس موسیر شناسایی شد. بیش‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس به‌ترتیب شامل دی‌آلیل‌دی‌سولفید و متیل‌متیل‌تیومتیل دی‌سولفید به‌ترتیب در غلظت‌های 17/23 و 11/18 درصد بودند. مکانیسم عملکردی اسانس‌ها در ارتباط با ترکیب شیمیایی و فعالیت ضدمیکروبی آنها می‌باشد، که این می‌تواند به دلیل حضور ترکیبات ضدمیکروبی دی‌آلیل دی‌سولفید و متیل‌متیل‌تیومتیل دی‌سولفید در اسانس موسیر و ترکیبات ضدمیکروبی α–پینن و پی‌سیمن در اسانس کندر باشد.

جدول 1- نتایج آنالیز اسانس کندر مورد بررسی با استفاده از GC/MS

ترکیب	شاخص بازداری	درصد
آلفا- پینن	3/12	35/17
آلفا- توژن	4/03	11/13
بی- میرسین	4/13	2/09
بتا0 پینن	5/19	1/5
لیمونین	5/76	7/19
لینالول	5/82	10/7
کمپن	5/94	0/37
پی- سیامین	6/21	13/15
تیموکینون	6/38	5/43
ترپینولن	7/57	0/75
کامفولنال	7/91	0/11
وربنونس	8/23	0/25
آلفا- کوپائن	8/37	1/34
آلفا- ترپینن	8/41	1/24
بتا- کاروفیلن	9/13	0/95
گرماکرین دی	9/21	2/27
سراتول	9/54	0/76
بورنئول	9/83	0/28
متیل بوتانات	9/92	1/48
کادینن	10/12	1/11
ناشناس	10/15	0/68
ناشناس	10/17	0/05
جمع کل	-	98

همچنین Dima و همکاران (2014) ترکیبات اسانس 6 گونه مختلف موسیر را شناسایی نمودند و گزارش کردند ترکیبات عمده و اصلی اسانس در گونه‌های مختلف اسانس شامل دی‌آلیل دی‌سولفید (37/90 درصد)، دی‌آلیل تری‌سولفید (28/06 درصد)، آلیل متیل تری‌سولفید (7/26 درصد)، دی‌آلیل سولفید (6/59 درصد)، دی‌آلیل تتراسولفید (4/14 درصد) و آلیل متیل دی‌سولفید (3/69 درصد) بود.

1 MA,Mettler

مطالعات مختلف درباره‌ی ترکیبات موسیر نشان می‌دهد که دی‌آلیل دی‌سولفید و دی‌آلیل تری‌سولفید دو ماده‌ی اصلی موسیر را تشکیل می‌دهد. احسانی و همکاران (1390) گزارش کردند ترکیبات عمده موجود در موسیر دی‌آلیل دی‌سولفید و تری‌سولفید متیل- 2- پروپنیل و دی‌سولفید متیل 1- پروپنیل به‌ترتیب باغلظت‌های 20/05، 18/6 و 11/20 درصد بود. در مطالعه‌ای Vanvuuren و همکاران (2010) که ترکیبات اسانس 20 گونه مختلف کندر را شناسایی نمودند و طبق یافته‌های آنها ترکیبات عمده اسانس در گونه‌های مختلف اسانس شامل α- پینن (64/7- 2 درصد)، α- توژن (52/4- 0/3 درصد)، β- پینن (13/1- 0/3 درصد)، میرسن (22/4- 1/1 درصد)، سیمن (16/9- 2/7 درصد)، لیمونن (20/4- 1/3 درصد)، سابینن (7- 0/5 درصد) و β-کاریوفیلن (10/5- 0/1 درصد) بود

جدول 2- نتایج آنالیز اسانس موسیر مورد بررسی با استفاده از GC/MS

ترکیب	شاخص بازداری	درصد
دی متیل دی سولفید	2/12	0/12
2- متیل پنتانال	3/15	2/34
۲،۵- دی اتیلیفوفن	3/18	0/76
دی متیل تری سولفید	3/90	9/12
متیل متیل تیومتیل دی سولفید	4/87	11/18
دیال دی سولفید	5/13	17/23
ان- دوداکن	5/45	2/98
بوتان اسید- متیل استر	5/90	1/58
هگزنال	6/14	0/17
2-متیل، 2 پروپنال	6/19	2/33
پروپانال دی اتیل استال	6/67	0/84
دی متیل تری سولفید	6/90	8/11
متیلتیوپروپیل الی دی سولفید	6/98	6/79
1-بوتان، 1-متیل تیو زد	7/60	7/15
متیل پروپیل ترسیولفید	7/77	6/16
۱،۲،۳-بنزنتریتیول	8/19	4/75
تری سولفید دیپروپیل	8/78	2/02
متیل 1-پروپنیل دی سولفید	9/36	3/45
هگزاهیدروفارنسل استون	9/85	0/56
۳،۵-هپتاندیون	10/43	1/30
متیل لینولنات	11/52	0/87
آلیل پروپیل دی سولفید	12/23	1/61
پیپریتنون	13/47	5/14
پیپریتنون اکسید	13/60	1/14
3- سولفین پروپانات	14/40	0/28
متیل مریستات	15/10	0/19
بنزیل بنزوات	17/23	0/37
اتیل هگزادکانوئات	19/48	0/57
جمع کل		99/11

آن‌ها تفاوت در مقدار و نوع ترکیبات شناسایی شده در اسانس‌ها را به عوامل متعددی مانند اختلاف گونه، شرایط آب و هوایی، نوع خاک منطقه رویش، شرایط نگهداری و مدت زمان نگهداری نمونه‌ها نسبت دادند. تفاوت در ترکیب اسانس‌های مختلف نوع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و مقدار آن را تحت الشعاع قرار داده و بر خصوصیات آنتی اکسیدانی آن‌ها تاثیر دارد. محمدی و عربشاهیدلویی (1394) ترکیبات موثره و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس اولئوگم رزین کندر را بررسی کردند. نتایج حاصل از بررسی و شناسایی ترکیبات اسانس کندر با روش کروماتوگرافی گازی با طیف‌سنج جرمی نشان داد بیشترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس بترتیب شامل هیدروکربن‌های ترپنوئیدی مانند α - پینن (29/8 درصد)، α- توژن (5/92 درصد)، β- پینن (3/41 درصد)، پی- سیمین (3/16 درصد) بود. اسانس روغنی اولئوگم رزین کندر ترکیبی از مونو، دی و سزکویی ترپن‌ها است، همچنین سایر ترکیبات فنولیک و یک الکل دی‌ترپنی به نام سراتول نیز در اسانس این اولئوگم رزین یافت شد.

حداقل غلظت مهارکنندگی MIC و حداقل غلظت کشندگی MBC غلظت‌های مختلف اسانس‌های کندر و موسیر

نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان داد که میزان MIC و MBC اسانس موسیر در برابر باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* به‌ترتیب 0/05% و 0/01% بود و میزان MIC و MBC اسانس کندر در برابر باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* به‌ترتیب 0/5% و 0/65% بود. در مطالعه Durairaj و همکاران (2009) MIC عصاره‌ی آبی سیر بر باکتری *اشرشیاکولای* و *کلبسیلا پنومونیا*، *پروتئوس میرابیلیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ترتیب ۷،۸، 9 و 18 میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش شد. در مطالعه دیگری تیموری (1388) روی اسانس مرزه بختیاری میزان MIC بر حسب mg/ml برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *باسیلوس سرئوس* به‌ترتیب 250، 125 و 2250 گزارش شد همچنین میزان MBC برای هر سه باکتری >1000 بر حسب mg/ml اندازه‌گیری شد.

تغییرات شمارش میکروارگانیسم *لیستریا مونوسیتوژنز*

نتایج تغییرات شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در جدول شماره 3 گزارش شده است. همانطور که مشاهده می‌شود قابلیت زنده‌مانی *لیستریا مونوسیتوژنز* با افزایش زمان نگهداری به‌طور معنی‌داری (p≤0/05) کاهش یافت. به‌طوریکه میزان باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در روز اول تولید در تمامی نمونه‌های مورد آزمون اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند و سپس طی دروه نگهداری تعداد آن به شکل معنی‌داری در تمامی تیمارها کاهش یافت. استفاده از اسانس‌های کندر و موسیر، باعث کاهش شدیدتر شمارش کلنی‌های باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* نسبت به نمونه شاهد طی دوره نگهداری گردید به‌طوریکه پایین‌ترین میزان باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* پس از 60 روز نگهداری متعلق به نمونه‌های حاوی 0/2 درصد اسانس موسیر بود که میزان باکتری از 1905 cfu/ml به صفر کاهش یافت و پس از آن متعلق به نمونه‌ی حاوی 0/7 درصد اسانس کندر بود که میزان باکتری از1860 به میزان 14/7 cfu/ml کاهش یافت. از طرفی باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* تنها باکتری است که قادر به رشد در مقادیر اشباع نمک می‌باشد به همین دلیل تا روز 60 غلظت بالای نمک نتوانسته مقدار این باکتری را به‌طور موثر کاهش دهد. همچنین باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* قادر به رشد در درجه حرارت پایین (4 درجه سانتی‌گراد) می‌باشد. از طرفی روند کاهش میزان باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* طی دوره نگهداری در نمونه شاهد بسیار ملایم بود و از 1910 به 815 cfu/ml تنزل پیدا کرد. که دلیل این کاهش می‌تواند به‌دلیل حظور آب نمک موجود در پنیرهای سفید آب نمکی باشد. در بررسی عوامل محیطی بر میزان اثر اسانس کندر و موسیر روی *لیستریا مونوسیتوژنز* مشخص شد که افزایش میزان دمای گرمخانه‌گذاری و غلظت نمک و کاهش pH سبب افزایش تاثیر مواد نگهدارنده می‌شود. علت آنکه در غلظت بالای اسانس تعداد باکتری به‌طور کامل صفر نشد، نشان‌دهنده سازگاری بالای *لیستریا مونوسیتوژنز* به غلظت‌های بالای نمک و دمای پایین است، همچنین می‌تواند با خروج آن غلظت بالای نمک را تحمل کند (چوبکار و همکاران، 1391). در یک مطالعه Yin و همکاران (2005) اثرات ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی و روغنی موسیر بررسی گردید. روغن موسیر در غلظت‌های 5 و 10 میلی‌مول دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی فوق العاده‌ای بوده و همچنین عصاره موسیر مانع از رشد 4 گونه باکتری مهم منتقله از طریق غذا شامل *لیستریا مونوسیتوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، سالمونلا و *اشرشیاکلای* O:157 H7 گردید. رهبر و همکاران (1383) اثرات ضدباکتریایی عصاره تام موسیر را بررسی کردند. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که عصاره موسیر دارای خاصیت ضدباکتریایی و مهارکنندگی بر علیه باکتری‌های باکتری‌های گرم مثبت و باسیل‌های گرم منفی می‌باشد. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باسیل‌های گرم منفی شامل *اشریشیاکولی*، *کلبسیلا پنمونیه* و *پروتئوس میرابیلیس* 624-78 میکروگرم در میلی‌لیتر بود. در حالی که حداقل غلظت مهارکنندگی برای پسودوموناس آئروژنوزا 80-20 میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. حداقل مهارکنندگی برای سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* به‌ترتیب 312- 156 و 312- 5/19 میکروگرم در میلی‌لیتر بود. و این نتیجه نشان‌دهنده مقاومت بالای این باکتری در مقابل عوامل ضدمیکروبی است. خاصیت ضدباکتریایی عصاره موسیر به‌واسطه ترکیبات تیوسلفاناتی آن می‌باشد. محمدی و همکاران (1385) فعالیت ضدقارچی اسانس کندر بر علیه ایزوله‌های بالینی مقاوم و حساس *کاندیدا آلبیکنس* به فلوکونازول را برررسی کردند. نتایج حاصل از بررسی که تعداد نمونه‌ها در این تحقیق 50 ایزوله قارچ *کاندیدا آلبیکنس* بوده که 25 ایزوله حساس به فلوکونازول و 25 ایزوله مقاوم به فلوکونازول بودند.در گروه ایزوله‌های حساس به فلوکونازول سه ایزوله تا رقت 1/32 اسانس، هفت ایزوله تا رقت 1/128 و هشت ایزوله تا رقت 1/256 اسانس رشد نکردند. در گروه ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول یک ایزوله تا رقت 1/32، شش ایزوله تا رقت 1/64، هشت ایزوله تا رقت 1/128 و ده ایزوله تا رقت 1/256 اسانس رشد نکردند. با توجه به این که اسانس کندر بر روی همه ایزوله‌های به‌کار رفته در تحقیق اثر مهاری داشته می‌توان آن را اسانسی موثر بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی معرفی و بررسی‌های بالینی اثرات ضدقارچی آن را توصیه نمود

جدول 3- تغییرات میکروبی (cfu/ml) پنیرهای سفید آب نمکی حاوی غلظت‌های مختلف اسانس کندر و موسیر طی 60 روز نگهداری

تیمار	نمونه	غلظت اسانس (٪)	روز 1	روز 30	روز 60
T_1	اسانس کندر	0/5	1835±21/2 aA	581±94/8 bB	143/5±9/19 bC
T_2		0/6	1945±77/8 aA	415±42/4 cB	92±18/49 bC
T_3		0/7	1860±84/9 aA	93/5±9/2 deB	14/7±1/06 cB
T_4	اسانس موسیر	0/05	1925±35/4 aA	175±14/1 deB	17/85±0/21 cB
T_5		0/1	1995±148/5 aA	87/5±10/6 deB	14/55±0/49 cB
T_6		0/2	1905±77/8 aA	13/1±0/5 eB	0/00±0/00 dC
T_7	کندر+موسیر	0/1 +0/6	1955±63/6 aA	179±22/6 dB	89/5±0/64 cC
T_8	شاهد1	0	1910±84/9 aA	1730±42/4 aA	815±49/50 aB

1:پنیرهای سفید آب نمکی بدون اسانس کندر و موسیر
نتایج به صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده است .
a-eحروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار ($p\leq0/05$) در هرستون می‌باشد. A-C حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار (p0/05) در هرسطر می‌باشد.

پروتئین و چربی

در انتهای دوره رسیدن و نگهداری همانطور که در جدول شماره 4 مشاهده می‌شود، افزودن درصدهای مختلف اسانس کندر و موسیر تاثیر معنی‌داری ($p>0/05$) بر روی تغییرات پروتئین و چربی در روز اول تولید نداشته است. با توجه به نتایج به‌دست آمده علت بررسی پروتئین و چربی در پنیر آب نمکی این است که افزایش غلظت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر α–پینن و دی‌آلیل دی‌سولفید در اسانس کندر و موسیر، به‌طور موثری مانع فساد اکسیداتیو چربی پنیر می‌شود. در پژوهش انجام شده توسط Rasmy و همکاران (2012) حفظ ویژگی‌های حسی و پارامترهای شیمیایی پنیر خامه‌ای طعم‌دار شده با اسانس رزماری و پونه کوهی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از تاثیر حفاظتی این اسانس‌ها در پنیر در برابر تخریب اکسیداتیو بود. مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره 1-2344، میزان پروتئین پنیر رسیده در آب نمک در رنج 13 تا 14 درصد و چربی نمونه‌های پنیر آب نمکی در رنج 20 تا 21 درصد بود که مغایرتی با استاندارد ملی نداشت (ISIRI NO. 2344-1, 2016).

جدول 4- تغییرات درصد پروتئین و چربی پنیرهای سفید آب نمکی حاوی غلظت‌های مختلف اسانس کندر و موسیر در روز اول تولید*

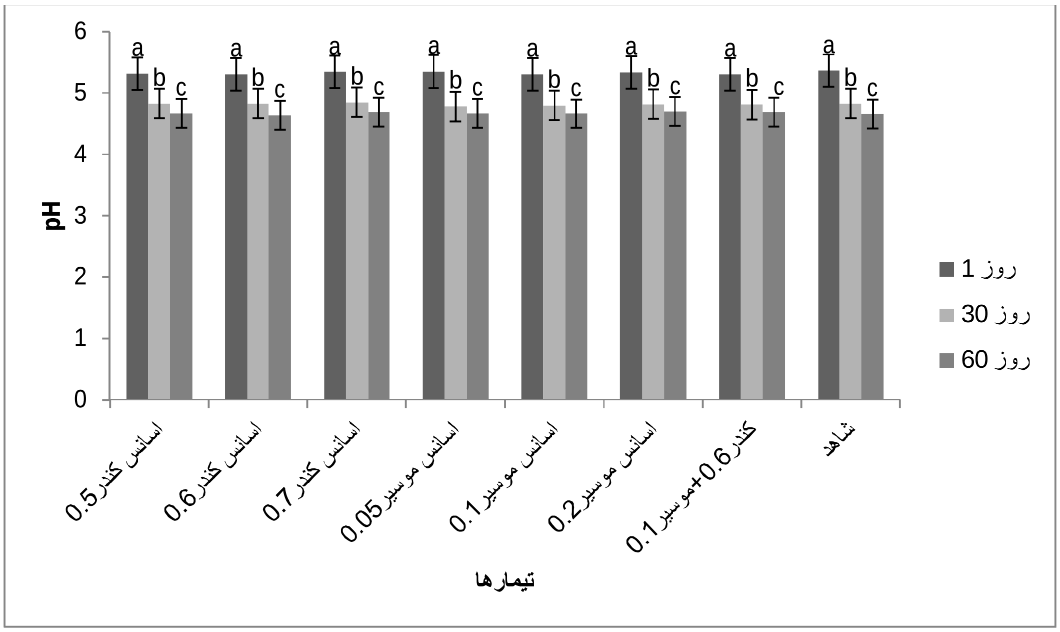
تیمار	نمونه	غلظت اسانس (٪)	پروتئین (٪)	چربی (٪)
T_1	اسانس کندر	0/5	14/920 ±0/141a	18/560 ±0/042a
T_2		0/6	15/080 ±0/042a	18/345 ±0/035a
T_3		0/7	14/930 ±0/113a	18/355 ±0/077a
T_4	اسانس موسیر	0/05	14/850 ±0/071a	18/545 ±0/063a
T_5		0/1	14/975 ±0/177a	18/425 ±0/021a
T_6		0/2	14/975 ±0/247a	18/460 ± 0/084a
T_7	کندر+ موسیر	0/1 +0/6	15/175 ±0/106a	18/410 ±0/127a
T_8	شاهد1	0	15/015 ±0/163a	18/485 ±0/077a

1:پنیرهای سفید آب نمکی بدون اسانس کندر و موسیر
نتایج به صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده است .
a-eحروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار ($p\leq0/05$) در هرستون می‌باشد.
A-C حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار (p0/05) در هرسطر می‌باشد.

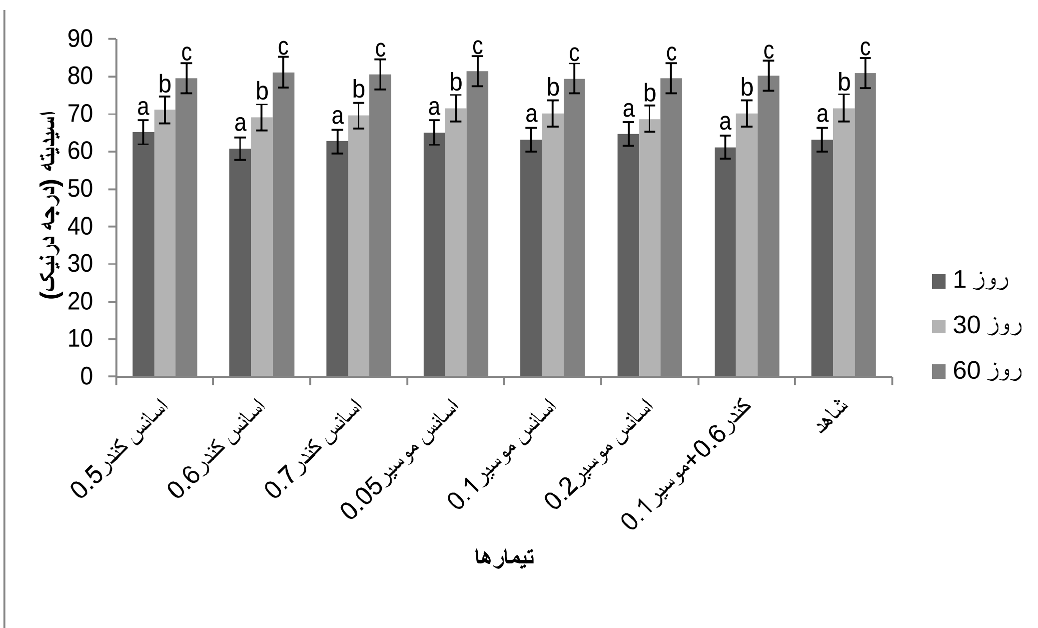
pH و اسیدیته

در طی نگهداری مواد غذایی اسیدیته کل و pH از فاکتورهای مهم نگهداری می‌باشند. نتایج تغییرات pH و اسیدیته پنیرهای سفید آب نمکی طی 60 روز نگهداری به‌ترتیب در شکل 1و 2 گزارش شده است. همانطور که مشاهده گردید مقادیر pH و اسیدیته تمامی تیمارها تا روز 60ام به‌ترتیب به‌طور معنی‌داری کاهش و افزایش یافت ($p\leq0/05$). در ضمن اسانس کندر و موسیر در مقایسه با گروه کنترل در غلظت‌های مختلف خود اثر معنی‌داری ($p>0/05$) بر تغییرات مقادیر pH و اسیدیته نداشتند. بدین ترتیب در روز 60ام نگهداری کمترین میزان pH و اسیدیته به‌ترتیب متعلق به نمونه‌ی حاوی 0/6 درصد اسانس کندر (T_2) و شاهد بود و بیشترین مقدار به‌ترتیب متعلق به نمونه حاوی 0/2 درصد اسانس موسیر (T_6) و شاهد بود. نتایج حاصل از ارزیابی تغییرات pH و اسیدیته پنیر درمراحل مختلف تهیه و نگهداری نمونه‌های این تحقیق نشان‌دهنده فقدان تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس کندر و موسیر بر میزان pH و اسیدیته است با افزایش طول دوره نگهداری تا روز 60ام، شاهد کاهش pH و افزایش اسیدیته در تمام نمونه‌های پنیر آب نمکی به صورت معنی‌دار بودیم ($p\leq0/05$) و علت این امر به طبع مربوط به فعالیت استارترها و باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک بود که با تخمیر لاکتوز اسید لاکتیک تولید می‌کنند در نتیجه اسیدیته را افزایش و pH را کاهش می‌دهند. این روند با نتایج گزارش شده توسط Tarakci و Kucukoner (2006) در مورد pH و اسیدیته پنیر سفید آب نمکی در طول دوره رسیدن مطابقت داشت. به عبارتی با توجه به ارزیابی تغییرات pH پنیر در مراحل مختلف تهیه و نگهداری، غلظت‌های مختلف اسانس‌های موسیر و کندر تاثیر معنی‌داری بر رشد و فعالیت باکتری‌های آغازگر مولد اسید لاکتیک ندارند. و با وجود اثرات ضدمیکروبی اسانس‌ها بر روی مهار باکتری‌های گرم مثبت، این تاثیر

بر روی باکتری‌های مولد اسید لاکتیک چشمگیر نبوده است. احسانی و همکاران (1390) از اسانس‌های موسیر و بادیان به‌عنوان ترکیبات ضدمیکروبی در فرمولاسیون پنیر سفید آب نمکی استفاده نمودند و گزارش نمودند استفاده از اسانس‌های موسیر و بادیان در مقایسه با شاهد هیچگونه اثر معنی‌داری بر تغییرات مقدار pH نداشته است ولی کاهش pH در تمامی تیمارهای مورد آزمون طی دوره نگهداری مشاهده گردید. همچنین محمودی و همکاران (1389) گزارش کردند میزان pH پنیر با به کارگیری عصاره پونه کوهی و افزایش غلظت عصاره تغییر نکرد و عصاره پونه کوهی بر فعالیت باکتری‌های اسیدلاکتیک بی اثر بوده است.



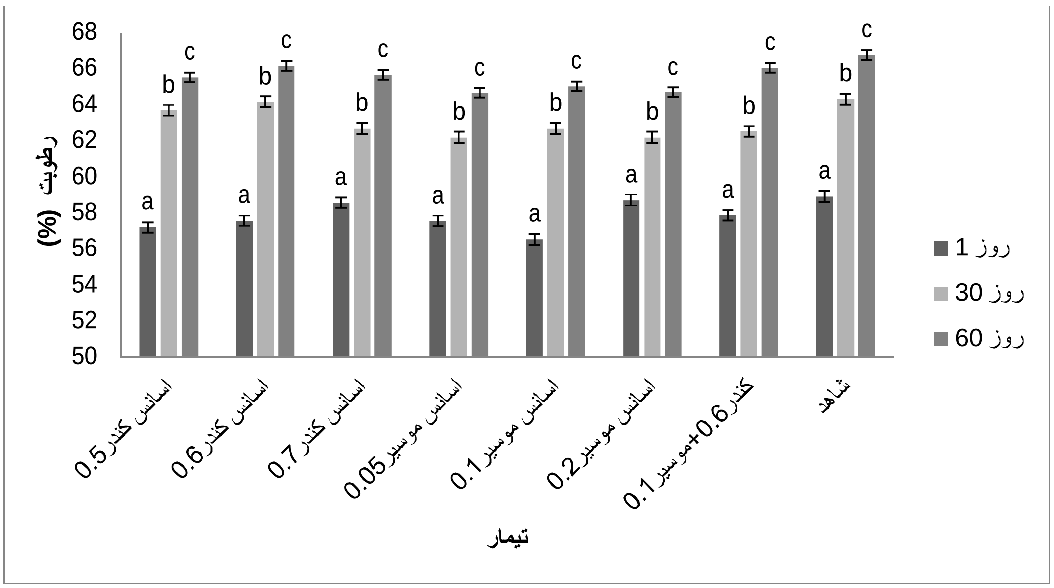
شکل 1- تغییرات pH پنیرهای سفید آب نمکی حاوی غلظت‌های مختلف اسانس کندر و موسیر طی 60 روز نگهداری



شکل 2- تغییرات اسیدیته (درجه دورنیک) پنیرهای سفید آب نمکی حاوی غلظت‌های مختلف اسانس کندر و موسیر طی شصت روز نگهداری

رطوبت

نتایج تغییرات رطوبت پنیرهای سفید آب نمکی طی 60 روز نگهداری در شکل 3 گزارش شده است. همانطور که مشاهده شد مقادیر درصد رطوبت تمامی تیمارها به‌طور معنی‌داری تا روز 60ام افزایش یافت. به‌طوریکه بالاترین درصد رطوبت متعلق به تیمار شاهد و پایین‌ترین میزان متعلق به نمونه حاوی 0/05 درصد اسانس موسیر (T_4) بود. نتایج بررسی رطوبت پنیر نشان‌دهنده فقدان تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس کندر و موسیر بر میزان رطوبت است که علت افزایش رطوبت لخته پنیر در روز شصتم نسبت به روز اول این است که با قرار دادن پنیر در آب نمک و با گذشت زمان و افزایش دما ضریب نفوذ آب به بافت پنیر، رطوبت افزایش پیدا می‌کند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان رطوبت نمک در نمونه‌های پنیر با تحقیقات فراهانی و همکاران (2014) مطابقت داشت. از طرفی علت افزایش رطوبت می‌تواند به دلیل فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌ها دانست که با نفوذ در غشای باکتری باعث متلاشی شدن و خروج و نشت آن از بافت پنیر می‌گردد که این امر می‌تواند باعث افزایش رطوبت با گذشت زمان نگهداری شود.



شکل 3- تغییرات درصد رطوبت پنیرهای سفید آب نمکی حاوی غلظت‌های مختلف اسانس کندر و موسیر طی شصت روز نگهداری

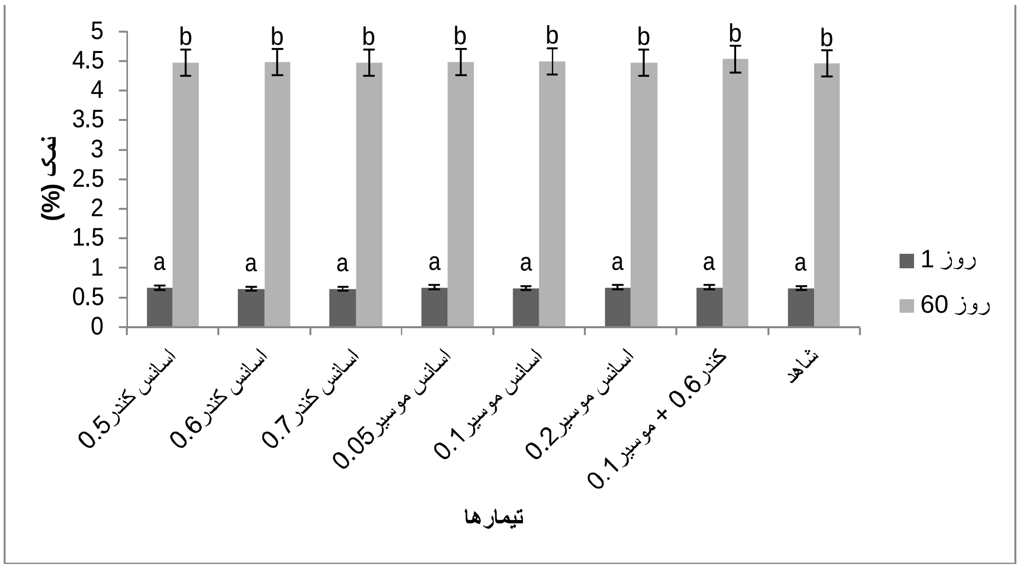
نمک

نتایج تغییرات نمک پنیرهای سفید آب نمکی طی 60 روز نگهداری در شکل 4 گزارش شده است. همانطور که مشاهده شد مقادیر درصد نمک تمامی تیمارها به‌طور معنی‌داری تا روز 60ام افزایش یافت. به‌طوریکه بالاترین درصد نمک متعلق به نمونه حاوی 0/6 اسانس کندر (T_6) و پایین‌ترین میزان متعلق به نمونه شاهد (T_8) بود. غلظت نمک در پنیر به مقدار اولیه افزوده شده، نوع نمک، دمای پنیر و pH بستگی دارد. افزودن نمک به پنیر از طریق پاشیدن نمک خشک بر سطح پنیر یا از طریق قرار دادن تکه‌های پنیر در داخل آب نمک و معمولا با ترکیبی از آن دو انجام می‌گیرد. جذب نمک در پنیر در طول مرحله تولید و دوره رسیدن انجام می‌گیرد و معمولا بعد از اتمام مرحله تخمیر لاکتوز نیز ادامه می‌یابد. علت افزایش میزان نمک لخته پنیر در روز شصتم نسبت به روز اول می‌تواند به این دلیل باشد لخته در روز اول در آب نمک قرار نداشته و سپس در آب نمک قرار گرفت و مولکولهای NaCl به صورت یون‌های Na^+ و Cl^- به سبب اختلاف فشار اسمزی بین رطوبت پنیر و آب نمک، حرکت آهسته‌ای از طرف مولکلول‌های آب نمک به سمت بافت پنیر انجام می‌گیرد و در نتیجه میزان نمک در طی زمان نگهداری افزایش می‌یابد ($p \leq 0/05$). مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره 1809 میزان نمک پنیر آب نمکی باید حداقل 3 و حداکثر 5 باشد که میزان نمک کلیه نمونه‌های پنیر آب نمکی در همین محدوده بود و مغایرتی با استاندارد ملی نداشت (ISIRI NO. 1809, 1977). نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان نمک در نمونه‌های پنیر با تحقیقات Milci و همکاران (2004) مطابقت داشت. همچنین Aly و Galal (2002) بیان کردند میزان نمک پنیرهای غیرپاستوریزه نسبت به پنیرهای پاستوریزه بیشتر بود.

ارزیابی حسی

نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های پنیر سفید آب نمکی با غلظت‌های مختلف اسانس کندر و موسیر در جدول شماره 5، مشاهده می‌شود. مطابق با نتایج اختلاف معنی‌داری ($p>0/05$) بین نمونه شاهد و سایر

تیمارهای مورد آزمون پس از طی 60 روز نگهداری، از لحاظ امتیاز طعم، بو، بافت و پذیرش کلی مشاهده نگردید. که علت این امر می‌تواند به دلیل بی‌طعمی اسانس کندر و طعم مطلوب اسانس موسیر هنگام افزودن به محصولات لبنی باشد که باعث شد این دو اسانس کاهش معنی‌داری بر روی طعم، بو، بافت و پذیرش کلی نداشتند (p>0/05). نتایج نشان داد بالاترین امتیاز پذیرش کلی پس از نمونه شاهد متعلق به نمونه 0/05 درصد اسانس موسیر بود که اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت. در مطالعه صورت گرفته توسط شعبانی و همکاران (1391) پنیرهای مختلفی با روغن‌های گیاهی تولید کردند و اعلام کردند که افزودن روغن‌های گیاهی تاثیر نامطلوبی بر میزان ویژگی‌های حسی محصول نمی‌گذارد که مطابق با نتایج این تحقیق بود.



شکل 4- تغییرات درصد نمک پنیرهای سفید آب نمکی حاوی غلظت‌های مختلف اسانس کندر و موسیر طی شصت روز نگهداری

جدول 5- امتیاز خواص حسی پنیرهای سفید آب نمکی حاوی غلظت‌های مختلف اسانس کندر و موسیر پس از شصت روز نگهداری (روز شصتم)

تیمار	نمونه	غلظت اسانس (٪)	طعم	بو	بافت	پذیرش کلی
T_1	اسانس کندر	0/5	4/875 ±0/106[a]	4/450 ±0/212[a]	4/700 ±0/282[a]	4/550 ±0/353[a]
T_2		0/6	4/575 ±0/388[a]	4/500±0/141[a]	4/775 ±0/106[a]	4/500±0/282[a]
T_3		0/7	4/750 ±0/212[a]	4/400 ±0/141[a]	4/600 ±0/424[a]	4/500±0/141[a]
T_4	اسانس موسیر	0/05	4/850 ±0/070[a]	4/500 ±0/141[a]	4/650 ±0/254[a]	4/645 ±0/063[a]
T_5		0/1	4/825 ±0/106[a]	4/375 ±0/035[a]	4/830 ±0/099[a]	4/455 ±0/063[a]
T_6		0/2	4/675 ±0/106[a]	4/250 ±0/070[a]	4/795 ±0/019[a]	4/205± 0/289[a]
T_7	کندر+ موسیر	0/1 +0/6	4/500 ±0/141[a]	4/150 ±0/212[a]	4/775 ±0/247[a]	4/565± 0/091[a]
T_8	شاهد[1]	0	4/825 ±0/106[a]	4/350 ±0/212[a]	4/715 ±0/120[a]	4/800± 0/141[a]

1:پنیرهای سفید آب نمکی بدون اسانس کندر و موسیر

نتایج به صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده است .

a-e حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار ($p \leq 0/05$) در هرستون می‌باشد.

نتیجه‌گیری

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که بیشترین میزان آلودگی لبنیات به *لیستریا مونوسیتوژنز* در شیر خام و پنیر نرم بوده است. در این مطالعه اثر ضدمیکروبی اسانس کندر و موسیر بر باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در پنیر سفید آب نمکی طی60 روز نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت. در بررسی حاضر مشخص گردید غلظت‌های مختلف اسانس‌های مذکور

و نیز مدت زمان نگهداری بر کاهش رشد و بقاء باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* تاثیر معنی‌داری داشتند و با افزایش غلظت اسانس میزان باکتری به شکل معنی‌داری کاهش یافت، به‌طوریکه که در انتهای دوره نگهداری نمونه‌های حاوی غلظت‌های بالاتر اسانس کندر (0/7%) و موسیر (0/2%) در مقایسه با شاهد از نظر ممانعت از رشد و کاهش بقاء باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* موثرتر بودند. می‌توان نتیجه‌گیری کرد قدرت ضدمیکروبی اسانس‌ها متفاوت بوده و اسانس موسیر نسبت به اسانس کندر اثرات ضدلیستریایی قوی‌تری داشت به‌طوریکه با استفاده از 0/2 درصد اسانس موسیر در فرمولاسیون پنیر سفید آب نمکی پس از 60 روز نگهداری تمام باکتری‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* از بین رفتند. استفاده از اسانس‌های کندر و موسیر اثر معنی‌داری بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و خواص حسی پنیرهای سفید آب نمکی در مقایسه با شاهد نداشتند ($p>0/05$). بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اسانس‌های موسیر و کندر می‌توانند به‌عنوان نگهدارنده‌های طبیعی برعلیه میکروارگانیسم‌های عامل فساد و پاتوژن در بسیاری از محصولات غذایی از جمله پنیر به‌منظور کاهش یا جایگزینی نگهدارنده‌های شیمیایی و مصنوعی مورد توجه قرار گیرند

منابع

Adelakun, E.A., Finbar, E.A., Agina, S.E., & Makinele, A.A., 2001, Antimicrobial activity of Boswelliadalziellii stem bark. *Fitoterapia*, 72(7), 822-824.

Aly, S.A., Galal, E.A., 2002, Effect of milk pretreatment on the keeping quality of Domiti cheese. *Pakistan journal of Nutrition*, 132-136, (4).

Alizadeh, M., Hamedi, M., & Khosrowshahi, A., 2006, Modeling of proteolysis and lipolysis in Iranian white brine cheese. *Food chemistry*, 97, 294-301.

Choobkar, N., Akhondzadeh Basti, A., Soltani, M., Sari, A.A., Emami Rad, A., Ghaeni, M., Roomiani, L., 2012, Effect of different concentrations of sodium chloride on the growth of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in salted Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fish fillets. *Journal of Food Health*, 1(4), 1-9.

Delaquis, P.j., Stanich, k., Girad, B., Mazza, G., 2002, Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *international.into journal food Microbial*. 74(1-2), 101-109.

Durairaj, S., Srinivasan, S., Lakshmanaperumalsamy, P., 2009, in vitro Antibactrerial Activity and Stability of Garlic Extract at Different pH and Temperature. *Elctonic Journal of Bio*, 5, 5-10.

Dima, M., Anne-Sylvie, F.T., Emmanuel, P., Tayssir, H., Nancy, N., Christine, F., Xavier, F., Farid C, 2014., Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activitiesof Six Essentials Oils from the *Alliaceae*Family. *Journal molecules*, 19, 20034-20053.

Ehsani, A., Mahmoudi, R., Zare, P., &Hasany, A., 2011, Biochemical properties and antimicrobial effects of Allium ascalonicum and Pimpinella anisum essential oils against Listeria monocytogenes in white brined cheese. *Journal of Food Industry Research*, 21(3), 307-328.

Fewic, G.R., Hanlely, A., 1985, The genus Allium-part critical reviews. *Food science nutrition*, 23(1), 1-73.

Farahani, G., Ezat panh, H., Abbasi, S., 2014, Evaluation of some physicochemical, rheological and tissue properties of white cheeses of salt water (Golpayegan cheese) during the period of reaching. *Food Science and Nutrition*, 11(3), 5-20.

Guillermo, A., Susana, E., Amelia, C., 2006, Secondary proteolysis of Fynbo cheese salted with nacl/kcl brine and ripented at various temperatures. *Food chemistry*, 96, 297-303.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI)., 1977, of measuring the amount of salt methods. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 1809.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI)., 2001, Iranian white cheese production methods. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 5772.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI)., 2002, of measuring the amount of measurement methods. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 1753.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI)., 2004, of measuring the amount of Protein methods. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 1811.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI)., 2006, of measuring the amount of Fat methods. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 8587.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI)., 2006, of measuring the amount of pH and acidity methods. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 2852.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI)., 2008, of Sensory tests methods. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 3442.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI)., 2016, Characteristics and method of cheese test in salt water. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 2344-1.

Khosravi, A., Malekan, M.A., 2004, Determinition of Alcholic and aqueous extract of Lavender Astvkas on Staphylococcus aureus and other Gram-negative bacteria. *The journal of Qazvin Univercity of Med Science*, 29, 3-9.

Milci, S., Goncu, A., Alpkent, Z., Yaygin, H., 2005, Chemical, microbiological and sensory characterization of Halloumi cheese producted from ovine,caprine and bovine milk. *International Dairy Journal*, 15, 625- 630.

Mohammadi, R., Yadegari, M.H., Moattar, F., Shams. M., 2006, Antifungal activity of *Boswellia serrata's* essentialoil against fluconazole resistant and susceptibleisolates of *Candida albicans*. *Journal of Isfahan Medical School,* 24(82), 30-36.

Moshak, Z., Moradi, B., Akhondzadeh Basti, A., Abbas Yafar, A., Gandami, G., 2008, Study of the behavior of bacteria of listeria monocytogenes during Iranian white cheese production process the influence of Zataria multiflora essential oil. *Journal of Medicinal Plants*, 8(1), 114-122.

Mohammadpoor Kanzaq, H., Noroozi, M., Mohammadpoorasl, A., Zavoshi, A., 2015, Study of Anti-Listeria Effects of Stachys Lavandulifolia Vachl Essential Oil in Ardabil Traditional Cheese. *Bimonthly Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*,22(4), 612-621.

Mohammadi, A., Arabshahi doloei, S., 2015, Antioxidant Activity of Oli Gum Extract of Chamomile Resin in Soybean Oil. *Journal of Iranian Food Science and Technology Researches*, 12(4), 477-488.

Rahbar, M., Hosseini Taghavi, S.A., Diba, K., Heydari, A., 2004, Study of antibacterial effects of Allium hirtifolium. *Journal of Medicinal Plants*, 4(13), 27-29.

Rahimi, E., Behzadnia, A., Shakerian, A, Momtaz, H., 2012, Frequency of Listeria species from raw milk traditional cheese and ice-cream in shahrekord and Shiraz. *Microbial world*, 2(4), 243-248.

Rasmy, N., Hassan, A., Mervat, I., EI- Moghay, M., 2012, Assessment of the Antioxidant Activity of sage (*Salvia officinalis L*) Extracts on shelf life of Mayonnaise. *Dairy and food Science*, 7(1), 28-40.

Shabani, J., Mirzaei, H.A., Habibi najafi. M.B., Jafari, S.M., 2012, Optimization of Cheese Formulation Extensive Process with Vegetable Oils. Publication of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. p. 32.

Tarakci, Z., kucukoner, E., 2006, Chenges on physicochemical, lipolysis and proteolysis of vacuum packed Turkish kashar cheese during ripening. *Jurnal of central europen agriculture*, 7(3), 459-464.

Teimouri, M., 2009, Oil analysis and investigate the antimicrobial activity Savory Satureja bachtiarica in Ardabil. *Reserch Journal of Plant Science*, 4(2), 19-26.

Van Vuuren, S.F., Kamatou, G.P.P., Viljoen, A.M., 2010, Volatile composition and antimicrobial activity of twenty commercial frankincense essential oil samples. *South African Journal of Botany*, 76, 686–691.

Yin, M.C., HSU, P.C., Chang, H.H., 2005, In vitro antioxidant and antibacterial activity of shallot and Scallion. *Journal food Science*, 68.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 16, No. 4, Oct- Nov 2020, p. 343-356

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 16، شماره 4، مهر- آبان 1399، ص. 356-343

Investigating the sensory properties and antimicrobial effect of frankincense and shallots essential oil on *Listeria monocytogenes* bacteria in white brined cheese

F. Sadeghi[1]- L. Nateghi[2*]

Received: 2019.05.26
Accepted: 2019.09.04

Introduction: There have been great efforts to find safe and potent natural antioxidants from various plant sources. Due to the side effects of chemical preservatives and as a support of the idea for consumption of green natural food, demand for studies on the antimicrobial properties of natural preservatives and essential oils on the important food borne pathogens in vitro and in food products has been increased. Medicinal plants are complex natural mixtures which contain compounds at quite different concentrations, and their antioxidant activities are due to many substances including some vitamins, flavonoids, terpenoids, carotenoids, phytoestrogens, minerals, etc. Essential oils existed in some herbs or their antioxidant components as preservative agents in food makes them to be proposed as potential substitutes of synthetic antioxidants in food stuff. Antioxidants are also widely used as additives in fats and oils and in food processing to prevent or delay spoilage of foods regarding to the harmful effects of synthetic preservatives on consumers' health, there is an increasing attention, both in food industry and authorities, to medicinal and aromatic plants as natural preservatives in food products. White brined cheese is a kind of hard cheese which is produced from raw milk of cow, lamb and the main characteristics of the taste are pickling and salinity. White cheese, salt water, including products that may be at the time of manufacture or during storage by microorganisms such as Listeria. The objective of the present study was to investigate physicochemical properties, anti-microbial and sensory properties of frankincense essential oil and shallot oil in white brined cheese.

Material and methods: The whole treatments in this research were included: T0 (control), T1 (0.5% (w/w%) Frankincense and 0% shallots essential oil), T2 (0.6% (w/w%) Frankincense and 0% shallots essential oil), T3 (0.7% (w/w%) Frankincense and 0% shallots essential oil), T4 (0% Frankincense and 0.05% (w/w%) shallots essential oil), T5 (0% Frankincense and 0.1% (w/w%) shallots essential oil), T6 (0% Frankincense and 0.2% (w/w%) shallots essential oil), T7 (0.6% Frankincense and 0.1% (w/w%) shallots essential oil). In order to produce a white brine cheese, in the first step, the raw milk was pasteurized at 72 ºC for 15 seconds and cooled at 35ºC, then 5 liters of milk were poured into each of the sterile specialty dishes. Then, *Listeria monocytogenes* (103 cfu / ml) were then inoculated into milk samples. In the next step frankincense essential oil concentrations (0.5%, 0.1%, 0.6%) and shallot oil concentrations (0.05%, 0.1%, 0.2%) and mixture (0.1%+ 0.6%) were added. Then 0.02% (w/v) calcium chloride was added and after 0.5 % (w/w) of starter culture containing *lycoplastic bacteria Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophiles* were added into the milk samples and mixed. Finally, after the milk pH reached about 6.5, 0.001% (w/v) of microbial rennet was also added (Sanjiu Mito Japan Co.) After dissolving it, sterile water was added into the milk at 35 °C and 8 minutes for milk coagulation resting time was given. After coagulation (60 min), the cheese samples were cut into 1-2 cm slices and wrapped in a cloth to be kept in room temperature for 6 hours under 12 kg weight plates for dewatering. Coagulants were impregnated in 20% (w/v) salt water for 6-8 hours after cheese samples were cut while transferring to 8% salt water at 12-14 ° C for 15 days. Therefore, samples after the initial arrival time to arrive at the final arrival were kept at 4 ° C for 60 days (ISIRI NO. 5772, 2001). The essential oils chemical composition were determined by gas chromatography equipped with mass spectroscopy (GC/MS). GC-MS analysis of the essential oil was performed using Agilent-Technologies 6890N. Physicochemical, microbial and sensory properties of samples immediately on days 1, 30, 60 were measured but protein and fat on day 1after produced were measured. Total protein was determined by macro kjeldahl method with national standard No. 1811 (Anonymous, 1383). Fat was determined by Gerber's method with national standard No. 8587. pH was determined by a MA-Mettler pH-meter and titratable acidity (percentage of lactic acid) was determined by 0.1 normal and phenolphthalein as identifiers using national standard No. 2852 (Anonymous, 1385). Level of moisture was determined by national standard No. 1753 (Anonymous, 1381). Salt percentage was determined by Moher method with national standard No. 1809 (Anonymous, 1356). To measure the number of *Listeria monocytogenes*, the microorganisms were measured in Palcam Agar Surface cultivation method at 30ºC for 72 hours (Khosravi and Malekan, 2004). Sensory

Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
(*- Corresponding Author Email: leylanateghi@yahoo.com)

analysis was performed by 10 trained panelists using a five point hedonic method with scales of one (very good), two (good), three (average), four (bad), and five (very bad) for taste, smell, texture, and overall acceptability with national standard No. 3442 (Anonymous, 1387). In order to design the treatments, a completely randomized design with factorial arrangement was used. For data comparison, Duncan's test was used at 95% confidence level. Minitab 16 software was used to analyze the statistical data.

Results and discussion: The results showed that the antimicrobial essential oils of the highest possible antimicrobial against Listeria monocytogenes was shallots average number of bacterial treatments 0.2% essential oil shallots (T5) and 0.7% Frankincense essential oil (T3) at the end of the maintenance period cheese was 0.147 ×102 cfu/ml and 0.000 cfu/ml, respectively, when compared with other treatments maximum reduction showed ($p \leq 0.05$). Sensory evaluation results showed that the control cheeses had the highest sensory acceptability. Given that treatment with 0.2 shallot oil had the highest germicidal effect and organoleptic properties statistically significant difference between treatment and control samples were not mentioned. Therefore, the use of essential oils 0.2% in the formulation of white cheese shallot salt water in order to prevent the growth of Listeria monocytogenes is recommended and the treatment was selected as the best treatment.

Keywords: White brine cheese, *Listeria monocytogenes*, Frankincense, shallots, essential oil.